

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.



0/A-70128/RMS/JDS/JML

WEST



Generate Collection

Print

JP 7-289886

L6: Entry 17 of 41

File: DWPI

Nov 7, 1995

DERWENT-ACC-NO: 1996-015644  
DERWENT-WEEK: 199602  
COPYRIGHT 2002 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Composite ceramics used in liq. chromatography sepn. columns - obtd. by depositing highly dispersed apatite fine particles on ceramics base supports and sintering in air or steam stream

## PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE

HOKKAIDO PREFECTURE

HOKKAIDO SOGO GIJUTSU KENKYUSHO KK

CODE

HOKKN

HOKKN

PRIORITY-DATA: 1992JP-0353804 (November 25, 1992)

## PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 07289886 A	November 7, 1995		005	B01J020/02

## APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP07289886A	November 25, 1992	1992JP-0353804	

INT-CL (IPC): B01 D 15/08; B01 J 20/02; G01 N 30/48

ABSTRACTED-PUB-NO: JP07289886A

## BASIC-ABSTRACT:

Composite ceramics with highly-dispersed apatite are obtd. by depositing highly-dispersed apatite fine particles on the surface of base supports made of ceramics with large specific surface areas and uniform grain diameters and sintering in an air or steam stream or treating in a hydrothermal atmos.

USE - The composite ceramics may be used as packing materials of liq. chromatography sepn. columns for sepg. and purifying proteins, nucleic acids, enzymes, and viruses.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/2

TITLE-TERMS: COMPOSITE CERAMIC LIQUID CHROMATOGRAPHY SEPARATE COLUMN OBTAIN DEPOSIT  
HIGH DISPERSE APATITE FINE PARTICLE CERAMIC BASE SUPPORT SINTER AIR STEAM STREAM

DERWENT-CLASS: B04 D16 J04 S03

CPI-CODES: B04-D02; B04-E03; B04-F11; B04-L01; B04-N04; B11-C08D2; B12-K04; D05-H13; J04-B01C;

EPI-CODES: S03-E09C;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 \*01\*  
Fragmentation Code

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-289886

(43) 公開日 平成7年(1995)11月7日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
B 0 1 J 20/02		A		
B 0 1 D 15/08				
G 0 1 N 30/48		C		

審査請求 有 請求項の数 3 書面 (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平4-353804	(71) 出願人	593010408 株式会社北海道総合技術研究所 北海道札幌市中央区北4条西6丁目1番地 毎日札幌会館内
(22) 出願日	平成4年(1992)11月25日	(71) 出願人	591190955 北海道 北海道札幌市中央区北3条西6丁目1番地
特許法第30条第1項適用申請有り 1992年9月18日～9月19日 日本無機リン化学会主催の「第9回無機リン化学討論会」において文書をもって発表		(72) 発明者	赤澤 敏之 北海道札幌市北区北19条西11丁目1番地 北海道立工業試験場内
		(72) 発明者	勝世 敬一 北海道札幌市北区北19条西11丁目1番地 北海道立工業試験場内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アバタイト高分散複合セラミックスおよびその製造方法

(57) 【要約】

【目的】 機械的強度、化学的安定性および蛋白質等の吸脱着特性に優れ、且つ、液体クロマト用分離カラムへの充填作業が容易なアバタイト高分散複合セラミックスを提供する。

【構成】 比表面積が大きく、粒径が均一なセラミックスを母材担体とし、担体表面にアバタイト系微粒子を高分散析出させ、空気中や水蒸気流中焼成または水熱雰囲気処理により作製するアバタイト高分散複合セラミックス。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 比表面積が大きく、粒子径が均一なセラミックスを母材担体とし、担体表面にアパタイト微粒子を高分散析出させ、空気中や水蒸気流中焼成または水熱昇昇気処理することを特徴とする高分散複合セラミックス。

【請求項2】 請求項1記載のアパタイト高分散複合セラミックスの製造方法。

【請求項3】 請求項1記載のアパタイト高分散複合セラミックスからなる液体クロマトグラフィー用充填剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、蛋白質、核酸、酵素およびウイルス等の分離・精製に用いる液体クロマト分離カラム用充填剤に利用されるアパタイト高分散複合セラミックスに関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】リン酸カルシウム的一种であるヒドロキシアパタイトは、理想的には $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ の化学量論組成と結晶化学的には空間群 $P6_3/m$ の六方晶系の結晶構造を有している。このヒドロキシアパタイトは、骨や歯を構成する無機質であることから、生体親和性を有するため、人工骨や人工歯根等の材料の他、生体活性の性質を損なわない材料として注目され、液体クロマトグラフィー分離カラム用充填剤へ応用されている。

【0003】液体クロマトグラフィーは、分離カラムに用いる充填剤の種類により、分子サイズ、吸着および分配係数等の相違による分離操作を行うため、目的物の分離に適した充填剤の選択が重要である。この中で最も代表的なものは、シリカゲル充填剤である。このシリカゲル充填剤は、 $\text{SiO}_2$ 上のシラノール基とサンプル分子中の活性官能基が水素結合されることを利用し、有機系溶媒によるクロマトグラフィーが展開される。多数のカルボニル基やアミノ基を持つ高分子物質またはイオン性化合物の分離には、シリカゲル表面に有機層をコーティングし、イオン交換能を与えることにより、水系溶媒によるクロマトグラフィーの展開を可能としている。充填剤の粒子径と形状については、不規則形状では充填層が不安定で、破碎された微粒子による分離カラム内の目詰まりが発生しやすくなるため、良好な機械強度を有し、狭い粒度分布（約 $5\mu\text{m}$ ）の球状多孔性粒子が使用されている。また、 $\text{pH}8$ 以上の塩基性領域では、シリカゲルの溶出が起こるため、シリカゲルクロマトグラフィーの展開は不可能とされている。

【0004】これに対し、中性と塩基性領域での使用が可能な充填剤として、ヒドロキシアパタイト充填剤がある。ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーは、1950年にスウェーデンのノーベル賞授賞者 Tiselius 等により導入された方法である。酵素、抗体その

他の蛋白質、核酸（DNA、RNA）およびウイルスなどの電荷を帯びた高分子物質（分子量  $10^4 \sim 10^6$  ダルトン）は、ヒドロキシアパタイト結晶に選択的に吸着され、ナトリウム系または、カリウム系のリン酸緩衝液のグラジエントによりクロマトグラフィーが展開される。即ち、分離カラム内に注入されたサンプル分子は、ヒドロキシアパタイト結晶のCサイト（負に帯電した分子表面上の官能基が吸着する  $\text{Ca}^{2+}$  サイト）またはPサイト（正に帯電した分子表面上の官能基が吸着する  $\text{PO}_4^{3-}$  サイト）上に吸着する。グラジエント時間の経過とともにリン酸イオン濃度が増加し、サンプル分子固有の保持時間でヒドロキシアパタイト結晶表面からのサンプル分子の脱離が進行する。そのサンプル分子の識別や分離は、結晶表面上の官能基分布および結晶表面とサンプル分子の相互作用に起因すると言われている。これらのヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーの分離効率を向上させるには、板状および球状化した充填剤が開発されている。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】ヒドロキシアパタイトは、酸性領域で化学的に不安定な物質であり、機械的強度は、シリカ、ジルコニア、アルミナ等のセラミックス材料と比較すると著しく弱いとされている。液体クロマト分離カラム用充填剤への応用では、酸性領域での使用により充填剤の化学的劣化が起こり、高圧化（ $100\text{kg/cm}^2$ 以上）での分離・精製操作は著しく充填剤を劣化させる。また、分離カラムへの充填剤の最密充填作業には、微細な破碎粒子の発生を防ぐため低圧状態で行う必要があり、かなりの熟練を要している。このため、充填剤の機械的強度を保持する対策として、ヒドロキシアパタイト粉末を水熱処理により板状化する方法や、噴霧乾燥法等により球状化を行い機械的強度の劣化を軽減する方法が採用されている。しかしながら、板状化した充填剤では理論段数の低下がみられ、球状化した充填剤では十分に高い機械的強度が得られないとされている。また、化学的安定性を向上させる手段としては、何ら具体的対策が実施されていないのが実情である。従って、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーは、優れた吸着分離特性を持ちながら、分析溶液や分離用溶離材の $\text{pH}$ 条件、クロマト展開時の溶離量等の分離操作および分離カラムへの充填作業の困難性により、シリカゲルクロマトグラフィーよりも汎用性が悪いと言われている。

## 【0006】

【解決するための手段】本発明に母材担体として用いられるセラミックス原料は、アパタイトとの親和性の高いシリカセラミックス、ジルコニアセラミックスおよびアルミナセラミックスのような市販特級試薬または珪操土のような天然物である。その形状については、比表面積の大きな球状多孔質セラミックスが分離能や耐久性に優

散複合セラミックスは、機械的強度、化学的安定性、蛋白質等の吸脱着特性および生体親和性に優れた特徴を有する材料としての提供が可能となり、生体材料、微生物担体および有害物除去材料等への応用が可能となる。

【0018】また、液体クロマト用カラム充填剤として下記のような効果もたらされる。

【0019】母材担体に比表面積が大きく、機械的強度が高く、粒子径が均一な球状多孔性セラミックスを使用しているため、高圧条件で最密充填することが可能となり吸着サイトの理論段数が増加し、蛋白質、核酸および酵素等の分離能と再現性が向上する。また、充填剤の粒子径が均一であるため、分離カラムへの充填作業が容易となる。更に、アパタイトと母材担体との強い相互作用により、化学的安定性が増加し、従来適用することが不可能であった低いpH領域における蛋白質等の分離・

精製や分離用溶剤の使用が可能となる。カラム寿命は著しく伸びる。

【0020】尚、この発明は、この発明の精神を逸脱しない限り種々の改変をなすことができ、この発明が該改変せられたものにおよぶことは当然である。

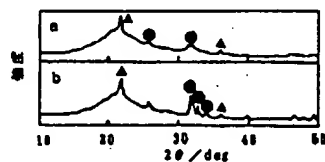
【0021】

【図面の簡単な説明】

【図1】5%-アパタイトをシリカ担体上に高分散させた複合セラミックスのX線回折パターンである。

【図2】ヒドロキシアパタイト単体、シリカ担体上に5%のアパタイトを高分散析出させた複合セラミックスおよびシリカ担体上に10%のアパタイトを高分散析出させた複合セラミックスによる牛血清アルブミンの吸着等温線である。

【図1】

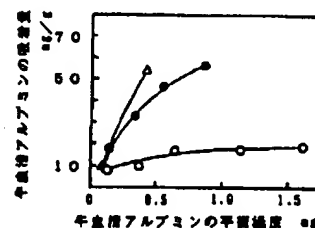


アパタイト高分散シリカ複合セラミックスのX線回折パターン

条件：a：湿式合成後、b：800℃ 24h。

●：ヒドロキシアパタイト、▲：クリストバライト

【図2】



アパタイト高分散シリカ複合セラミックスによる

牛血清アルブミンの吸着特性

条件：○：100%-アパタイト、●：10%-アパタイト、

▲：5%-アパタイト

フロントページの続き

(72)発明者 長野 伸泰

北海道札幌市北区北19条西11丁目1番地

北海道立工業試験場内

(72)発明者 内田 典昭

北海道札幌市中央区北19条西11丁目1番地

北海道立工業試験場内

(72)発明者 工藤 昌史

北海道札幌市西区西野8条3丁目7番地8

号